昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，March 2008，51(3)：258 – 263　　ISSN 0454-6296

棉铃虫 *HaKettin1* 基因的全长 cDNA 克隆、序列分析和表达谱

齐晓朋，牛宝龙，何丽华，翁宏飚，刘　岩，沈卫峰，孟智启*

（浙江省农业科学院蚕桑研究所，杭州　310021）

摘要：【目的】为了克隆棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 编码肌肉蛋白 *Kettin* 基因的全长 cDNA 序列以及鉴定该基因在棉铃虫发育周期内的表达模式。【方法】利用兼并引物，通过分段 RT-PCR 和 5′-和 3′-RACE 的方法克隆全长 cDNA 序列。利用半定量 RT-PCR 进行表达谱分析。【结果】编码棉铃虫 *Kettin* 蛋白的基因 *HaKettin1* 全长 cDNA 序列为 13 805 bp，包含一个 13 365 bp 的开放阅读框，编码 4 454 个氨基酸，蛋白分子量约为 504.3 kD。组织表达结果显示 *HaKettin1* 基因在棉铃虫的整个生育周期都有表达，幼虫期的表达尤为显著。【结论】*HaKettin1* 与家蚕的 *Kettin* 蛋白具有 90% 的同源性，表明鳞翅目昆虫的 *Kettin* 蛋白之间具有很高的保守性。表达谱结果显示 *HaKettin1* 基因在棉铃虫的整个发育过程中都发挥重要作用。

关键词：棉铃虫；*HaKettin*1 基因；克隆；结构域；表达谱

中图分类号：Q966　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0454-6296(2008)03-0258-06

cDNA cloning, sequence analysis and expression profiling of *HaKettin1* gene from *Helicoverpa armigera*

QI Xiao-Peng，NIU Bao-Long，HE Li-Hua，WENG Hong-Biao，LIU Yan，SHEN Wei-Feng，MENG Zhi-Qi*

(Sericulture Research Institute，Zhejiang Academy of Agricultural Sciences，Hangzhou 310021，China)

Abstract：【Objective】To clone the full length cDNA sequence of *Kettin* gene from *Helicoverpa armigera* and analyze its expression profiles in the life cycle of *H*. *armigera* development.【Methods】Using multiple RT-PCR and 5′-，3′-RACE to clone the full length cDNA sequence of *HaKettin1*，and semi-quantitative RT-PCR to analyze the expression profiles.【Results】The full length of *HaKettin1* cDNA sequence is 13 805 bp，containing an open reading frame of 13 365 bp. The deduced amino acid sequence consists of 4 454 amino acids，with molecular mass about 504.3 kD. The results of expression profiles showed *HaKettin1* was expressed in all the cycle of insect life，and the expression of *HaKettin1* at larval stage was higher than at other developmental stages.【Conclusions】Percent identity of *HaKettin1* protein and *Bombyx mori* Kettin protein is 90%，suggesting that Kettin proteins are much conserved among Lepidoptera insects. The results of expression profiles suggest that *HaKettin1* plays an important role in the development of *H*. *armigera*.

Key words：*Helicoverpa armigera*；*HaKettin1* gene；cloning；domain；expression profiles

Kettin 是在节肢动物肌肉的 Z 盘和 I 带内发现的一类巨大蛋白，分子量大都在 500 ~ 700 kD（Lakey *et al*.，1993；Ono *et al*.，2006），含有 30 ~ 35 个类似免疫球蛋白结构域的间断的重复单元，重复单元之间由短的连接片断相连。研究线虫 *Caenorhabditis elegans* 发现，Kettin 蛋白是肌肉细胞内进行肌动蛋白组装和维持肌原纤维稳定性的重要调节因子，它的缺失会导致肌动蛋白纤维以及肌肉 Z 盘的解体（Ono *et al*.，2006）。*Kettin* 基因最先是在巨大的水虫 *Lethocerus* 中被克隆并报道，接着在果蝇、家蚕 *Bombyx mori* 和小龙虾中也相继被克隆（Lakey *et al*.，1990，1993；Maki *et al*.，1995；Suzuki *et al*.，

基金项目：国家科技攻关资助项目(2004DFBA0007) 浙江省重点科技攻关资助项目(021106600)

作者简介：齐晓朋，男，1978 年 7 月生，山东寿光人，博士，助理研究员，从事昆虫分子生物学研究，E-mail：iamqxp@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：mengzq2011@sina.com

收稿日期 Received：2007-09-07；接受日期 Accepted：2008-02-26

1999）。飞行昆虫的肌肉 Z 盘与脊椎动物的区别在于它可以抵抗过高的机械损伤和过高、过低离子强度的溶解，这种结构的完整性就是归功于 Z 盘内的 Kettin 蛋白（Straiten *et al*.，1999）。Kettin 蛋白固定在细的肌丝上，负责昆虫间接飞行肌肉的僵硬和伸展，以此完成飞行中的摆动过程，Kettin 蛋白的缺失会导致果蝇的飞行缺陷（Hakeda *et al*.，2000；Bullard *et al*.，2006）。

Kettin 基因的全长序列在昆虫中也较少报道，家蚕中 *Kettin* 基因位于 Z 染色体上，编码的蛋白由 35 个重复 IgG 连接而成（Suzuki *et al*.，1999）。家蚕和棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 同属于鳞翅目昆虫，同家族的基因在序列上具有较高的同源性。根据家蚕、果蝇的 *Kettin* 基因序列设计兼并引物克隆棉铃虫的 *Kettin* 基因（*HaKettin1*），从而可以研究 *HaKettin1* 基因结构、功能及其表达，为进一步开展棉铃虫的分子生物学研究提供基础。

1　材料和方法

1.1　虫源及人工饲养

棉铃虫幼虫采自浙江萧山。培养室的温度控制在 25℃，光周期 16L∶8D，相对湿度 40%。成虫用 10%的蜜水饲养，幼虫用人工饲料喂养。人工饲料的配方：玉米粉 170 g，黄豆粉 80 g，麦胚粉 50 g，酵母粉 45 g，白糖 40 g，复合维生素 B 2 g，山梨酸钾 2.2 g，Vc 6 g，泥铂金 2.2 g，水 700 mL。挑选刚羽化的雌雄成虫进行配对饲养。

1.2　RNA 提取与 RT-PCR

用 Trizol 试剂从棉铃虫 5 龄幼虫的肌肉组织中提取总 RNA。RT 步骤如下：将 14 μL 体系的反应液［包括 3 μg 的 RNA，1 μL oligo（dT）12－18（500 μg/mL）引物，1 μL 10 mmol/L dNTPs（dATP，dGTP，dCTP 和 dTTP，每种都是 10 mmol/L）］65℃变性 5 min，然后冰上冷却 5 min。再加入 4 μL 逆转录酶 5 × buffer，1 μL M-MLV 逆转录酶（Promega，200 units），1 μL DTT（1 mol/L）和 0.5 μL 逆转录酶抑制剂（40 U/μL），37℃反应 1 h，然后在 70℃变性 15 min。

比对家蚕、果蝇和线虫等 *Kettin* 基因的 DNA 序列，根据保守区域设计 4 对兼并引物（图 1），D1up 5′-TATCGTGG（CT）ACGAGAAA（TG）GAAA（GC）G-3′，D1low 5′-GTG（TC）ACG（TC）CGGCAAT（GA）CGAATC（G）GCG-3′；D2up 5′-GTA（TC）GACC（GT）TGTACAA（T）CAAGGT（AG）C-3′，D2low 5′-GTT（A）TCTCA（GC）TTT（AG）CTGAACC（GT）ATT-3′；D3up 5′-GT（GC）AAAGCTCCC（AG）GTC（G）TTC（AT）ACAG-3′，D3low 5′-CG（AC）ATA（C）CGC（A）AG（C）TTTC（G）GGGTCTT-3′；D4up 5′-AGAGGCAGTTACAACAGCCAC-3′，D4low 5′-TCA（TC）GTAGAAGTAATC（G）TTACG（CT）TGT-3′。其中第 4 对上游引物（D4up）是根据第 3 对的测序结果设计，为特定引物。PCR 反应条件是第 1 步 95℃ 变性 5 min；第 2 步 95℃ 变性30 s，58℃退火 30 s，72℃延伸 2 min，重复 35 个循环；第 3 步 72℃延伸 10 min。PCR 产物割胶回收、克隆到 pMD-18T 载体内（TaKaRa）进行测序。根据已测序的保守片段再设计引物扩增片段与片段之间序列，所用到的 2 对特定引物（图 1）：K1up 5′-CTCCGCAAGAGACGTATGTGC-3′，K1low 5′-GCGCGACATAACCAAAGTCG-3′；K2up 5′-GACTTATTCCAGTTGGTGAC-3′，K2low 5′-AATCTGGCTTCAAAGTGTGC-3′。PCR 反应条件是第 1 步 95℃ 变性 5 min；第 2 步 95℃ 变性 30 s，58℃退火30 s，72℃延伸 4 min，重复 35 个循环；第 3 步 72℃延伸 10 min。PCR 产物割胶回收、克隆到 pMD-18T 载体内（TaKaRa）进行测序。对测序片段进行比对拼接。所设计的 2 对验证引物（图 1）：T1up 5′-GGCACTATCCGCTAACTATTCGC-3′，T1low 5′-TTA TCATAGCTCTTAAGATGTGTGG-3′；T2up 5′-TCGGAA TGTGGGAGGGACAGCATGC-3′，T2low 5′-AGGGGCAT TAACGGAACACTCAGCG-3′。PCR 反应条件是第 1 步 95℃ 变性 5 min；第 2 步 95℃ 变性 30 s，58℃退火 30 s，72℃延伸 6 min，重复 35 个循环；第 3 步 72℃延伸 10 min。PCR 产物割胶回收、克隆到 pMD-18T 载体内（TaKaRa）进行测序验证。

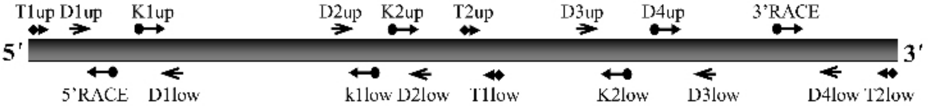

图 1　克隆 *HaKettin1* 基因所用引物在基因序列上的相对位置

Fig. 1　The relative position of primers at *HaKettin1* gene sequence

→ 兼并引物 Degenerate primers；●➝ 特定引物 Specific primers；◆➝ 验证引物 Test primers.

1.3 5′-RACE 和 3′-RACE

根据所得的拼接序列结果设计 2 个特定引物分别克隆 *Kettin* 基因的 5′末端和 3′末端序列（图 1）。5′-RACE： 5′-CACGTCACCGGTTTGTTCGTT-3′； 3′RACE：5′-ACGACAGGGAGTTATTGACCAC-3′。利用 SMART^{TM} RACE cDNA Amplification Kit（Clontech）进行 RACE 试验，详见产品使用手册（http：//www.bdbiosciences.com/clontech/）。PCR 产物割胶回收、克隆到 pMD-18T 载体内（TaKaRa）进行测序。

1.4 *Kettin* 基因在棉铃虫各个时期的表达情况

根据拼接的 *HaKettin1* 基因的 cDNA 序列，设计 1 对特异性引物（HaKettin1RTup 5′-CCAGTCGCACACAGTTGAAGAATC-3′，HaKettin1RTlow 5′-TCGCCTGCTGAACTTCTAGCAAT-3′）进行半定量 RT-PCR，检测 *HaKettin1* 基因在棉铃虫在不同发育时期的表达情况。同时设计 1 对 Actin 引物作为内参，ActinRTup 5′-CGCGACCTCACAGACTACCT-3′，Actin-RTlow 5′-GGCCAGACTCATCGTACTCCT-3′。PCR 反应条件：第 1 步 95℃ 变性 5 min；第 2 步 95℃ 变性 30 s，58℃退火 30 s，72℃延伸 1 min，重复 28 个循环；

```
↓1 bp
GGCACTATCCGCTAACTATTCGCAATCGACCGACGTCTTGGATGTTGGACTTGGGTTATAAT
GACTTGACTTCTGCTAAATGAACCCGTGTACTAGTATAAGTTTTTCGCAGTGGCGTAATTAT
TTCTTAATACACGAGCGCCGAAACGAGGATTGTTTTTCGATAAGGACAATTAGCGTCGAGTG
AGAGTTTTTTGTGCGTTGTGCTGCAGTGGCGGCAAAATGGAGAAGCAGTCGAGGTGGTCGGA
GCAGCGCTCCGAGCAGCGCTCCGAACAGCGCGTGCAGCAGCACACCGAGCGGCGCGAGCAAG
TGATGCAGCAGCAGGAGCGCGTGCAGCGCACTGAGCAGCACTACACGCGCCAGATGCTCACC
CAGCAAGTTGAATCTGCTGGCGATCGCTTGCCTGTCACATTAGGCAGGCCTGGCGAACCTTC
TCCCCCAATCTTTGAGCAAATCTTCAAAAATGCAAGGTTTGCGCAAGGCGGAAATGCAAAAT
TCGAAGGAAAACTTAGAGGCAATCCTACCCCCGTTGTATCGTGGACGAGAAAGAAAGCTCCA
CTGGTGGAGTGCAATAAGTATAGTATGAGCTACAACGAACAAACCGGTGACGTGTCCTTATT
AATTAAACAAATCGGGCCGGGTGATGGGGGCGAATACACGTGCACTGCCCGCAATCAGTATG
GCGAGGCCATTTGCTCCGTGTACATTCAGCCTGAAGGTGTCCCGGTGCCCGCGCACCAGGCC
TCGCAGC
      ↑751 bp
   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
   - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
↓12 610 bp
GATGAAACTACACAGTATCAGCGCTCTGAAACAGAATTAGAGAAAACGTTTGAGGAAAGGCA
AGTTTTGCAACGACAGGGAGTTATTGACCACAGGCCTGAGTTGAAACCGAAGGTCATTAAAG
AGCCGGAAACAGAATGGCAACAGACTGTCAAGAAGAAGAAGAGTGAAGAGTATTACAATAAA
CTGCAGGAACTCGAAAATGAGCAGGTTATTAAGGAAAGTCGATTTAGAGAATCCACTCATCA
ATATGCTATTCCTGGGGAAAAGATCGCTAGTAGTTCTATTGCCAAGGGCATGGCTCAAAGAT
ACGAGGACACCCTGGAACAAACGGAAGTTACAACTGAACAAGTACAGCAGAAGAAAGTAGCG
AAGCCTAGAATTCCGCCAGGCCCATCTGAATCTACTGTTCATGGAAAAGAAGTACATGTTGC
CAAACAGAAACAAATTCAGAAGGAAGTGGTCGGAGATACAGAAATTACACGTAAGATTACTT
CTACTGAAACAACTGAAATGGAACATAAAGCTCAGACACAGGAAAGAGTAGTGGAAGGACCT
GTGAAGCCTAGCAAGCCTCCAGTATTTACTAAGAAAATGCAACCTTGCCGTGTGTTCGAACA
CGAACAAGCCAGATTCGAAGTAGAATTCGATGGCGACCCACTGCCGACCATCAAGTGGTACA
GGGAGAACTTCCCCATTAAAAACTCCGCTGACTTCCAGATCCACACATTTAGCACCAAATCC
ATTCTTATCATCAGGCAAGTTTTCGTTGAAGACTCTGCTGTGTTTGCAGCTGTGGCTGAAAA
CCGTGGAGGAACTGCTAAATGTAGCGCTAACTTAGTTGTAGAAGAGCGCAGAAAGCAAGGAA
GGGGTGGAGTTGCACCACCAAGTTTCACTTTAACAGCTCAAAACGTTAATGTGACAGCCGGT
CAACTAGTCAGGTTTGATACCAAAGTGACTGGGAACAAAGCCTATTGATGTTTACTGGCTGA
AGAACGGAAAGAAAGTTCAGCCGGATATCAGAAACAAAATACTAGAAGAAGATGGCACATAC
ACCCTTCTTATTCTTGAAGCTTATCCCCAAGATTCGGGTAAATATGAGTGTGTTGCGATAAA
CAGCGCTGGAGAGGCACGGTGTGACGCTGAGTGTTCCGTTAATGCCCCTGCTACCAAAAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAA
                 ↑13 805 bp
```

图 2 *HaKettin1* **基因的全长** cDNA **序列**

Fig. 2 cDNA sequence of *HaKettin1*

箭头指示碱基在全长 cDNA **中的位置；下划线指示的是起始密码子** ATG **和终止密码子** TGA**，中间虚线表示省略的** DNA **序列部分。**

The arrow shows the position of nucleotide acid in the cDNA sequence, the underline shows the start codon ATG and stop codon TGA, and the internal broken line indicates the omitted DNA sequence.

第 3 步 72℃延伸 5 min。PCR 产物进行电泳检测。

1.5　Kettin 家族的蛋白同源性分析

将 HaKettin1 的全长蛋白序列比对蛋白数据库（Swiss-Prot 和 EMBL 数据库，http：//cn.expasy.org/tools/blast/），将具有全长蛋白序列的 Kettin 蛋白在 NCBI 进行免疫球蛋白结构域分析。将所选取的 Kettin 家族蛋白序列通过 EBI 网站在线比对（http：//www.ebi.ac.uk/clustalw/），进行蛋白的同源性分析。

2　结果和分析

2.1　序列克隆

经过分段 RT-PCR、5′-RACE 和 3′-RACE，并将测序序列进行拼接，最终得到 *HaKettin1* 基因的全长 cDNA 序列，全长为 13 805 bp。利用全长 cDNA 设计的引物进行全长验证，结果符合拼接序列。经 EditSeq 软件分析得知该全长 cDNA 序列包含一个 13 365 bp的最大开放阅读框，ATG 在全长 cDNA 的 223 bp 位置，终止密码子为 TGA，该阅读框所编码的蛋白包含 4 454 个氨基酸，蛋白分子量约为 504.3 kD（图 2，GenBank No. EU109282）。

2.2　HaKettin1 的蛋白结构及其家族同源性比较

HaKettin1 蛋白序列是由多个重复的免疫球蛋白结构域（Ig domain）串连而成，免疫球蛋白结构域之间由短的连接片段相连。HaKettin1 蛋白经 NCBI 蛋白结构分析含有 31 个免疫球蛋白结构域（图 3）。其他 Kettin 蛋白也是由相似的结构域连接而成，不同的是各蛋白具有不同数目的免疫球蛋白结构域。已克隆的线虫 Kettin 蛋白含有 30 ~ 34 个免疫球蛋白结构域（Q8MXD7，30 个；Q965G2，30 个；Q5PY59，31 个；Q9TXK2，34 个；Q9NL87，30 个；Q8MXD8，31 个），果蝇（Q9I7U4-2）、家蚕（Q8T103）、按蚊 *Aedes aegypti*（Q17AE9）以及小龙虾（Q95YM1）的 Kettin 蛋白都含有 35 个免疫球蛋白结构域（图 3）。所有的

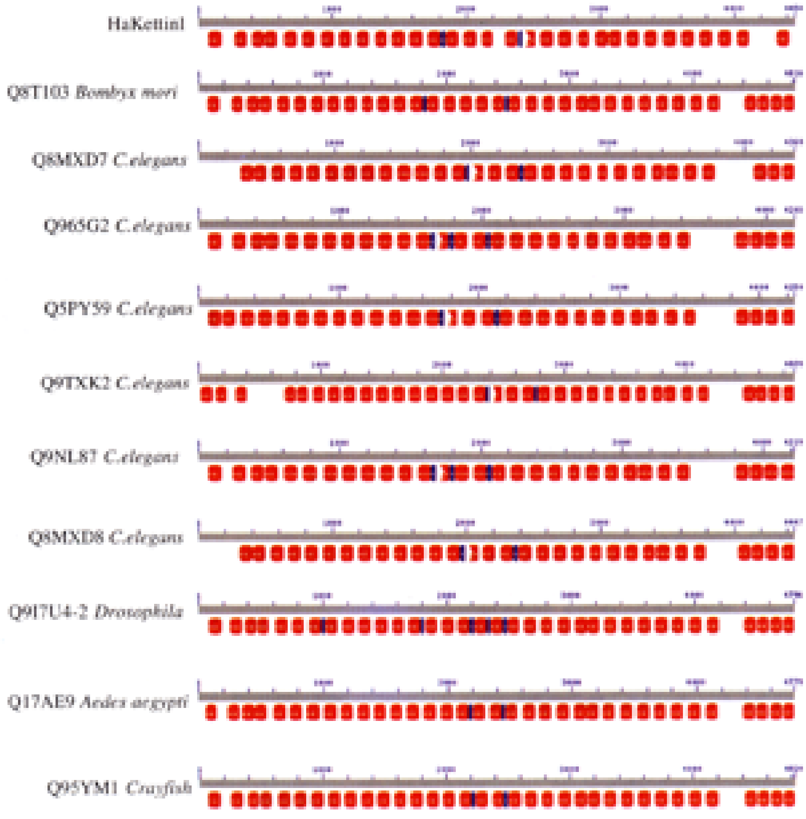

图 3　Kettin 蛋白的结构域比较

Fig. 3　Domain comparison of Kettin family proteins

棉铃虫、家蚕、线虫、果蝇、按蚊以及小龙虾的 Kettin 蛋白序列进行结构域分析。红色粗方块代表 IGcam（immunoglobulin domain cell adhesion molecule subfamily），免疫球蛋白结构域细胞黏附分子亚家族。蓝色细方块代表未知功能的结构域。名称前的编码为 ExPASy 数据库的蛋白编号。Kettin proteins from *Helicoverpa armigera*，*Bombyx mori*，*C. elegans*，*Drosophila*，*Aedes aegypti* and crayfish were analyzed. Red thick rectangles indicate IGcam (immunoglobulin domain cell adhesion molecule subfamily), while blue thin rectangles indicate unknown function domain. The number at the beginning of name was named according to ExPASy database.

Kettin 蛋白在 C 末端都含有一个较大的连接片段。Kettin 家族蛋白之间的同源性较高，HaKettin1 蛋白序列与家蚕的同源性高达 90%，与果蝇和按蚊的同源性均为 69%，与小龙虾的同源性为 57%，与线虫的同源性较低为 28% ~ 30%。

2.3　*HaKettin1* 基因的生育周期表达

利用半定量 RT-PCR 检测 *HaKettin1* 基因在棉铃虫生育周期内的表达情况，结果显示从卵到成虫，*HaKettin1* 基因在棉铃虫体内都有表达，在 5 龄幼虫期时的表达最为显著，在卵、蛹和成虫时期的表达要明显低于在幼虫期的表达（图 4）。

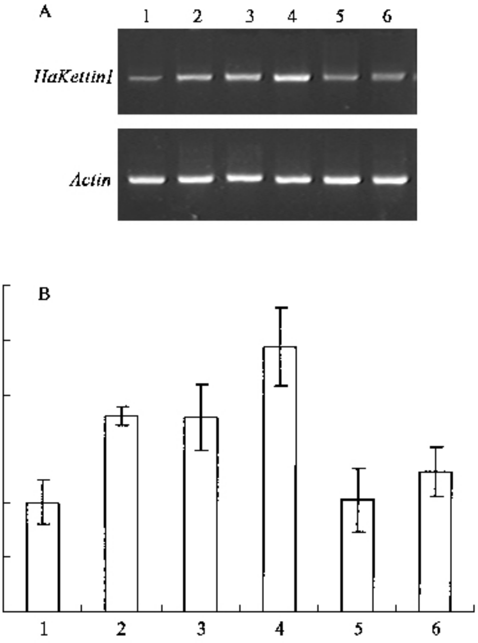

图 4　*HaKettin1* 在棉铃虫生育周期内的表达

Fig. 4　The expression profiles of *HaKettin1* in the life cycle of *Helicoverpa armigera*

A：RT-PCR 电泳结果 Electrophoresis results of RT-PCR；B：量化结果，相对于 *Actin* 的表达强度进行量化比较，每个数值都是 3 次实验的平均值 Quantitative results of *HaKettin1* expression；each value was the band intensity relative to the band of *Actin* expression respectively；each bar was a mean of 3 independent experiments. 1：卵 Ovum；2：1 龄幼虫 1st instar larva；3：3 龄幼虫 3rd instar larva；4：5 龄幼虫 5th instar larva；5：蛹 Pupa；6：成虫 Adult.

3　讨论

Kettin 家族是一类由多个重复免疫球蛋白结构域连接而成的蛋白，通过分段 RT-PCR，结合 5′-和 3′-RACE 获得的 HaKettin1 蛋白是由 31 个重复的免疫球蛋白结构域和连接片段构成（图 3）。本实验进一步证实了通过分段 RT-PCR 方法进行较长基因全长 cDNA 克隆的可行性。Kettin 蛋白是动物肌肉组织的重要组成部分，它在各物种间也具有高度的同源性和进化上的保守性。棉铃虫和家蚕同属于鳞翅目昆虫，Kettin 蛋白在两者之间的同源性高达 90%，*Hakettin1* 基因在棉铃虫幼虫期的表达十分显著（图 4），这些都充分说明了 Kettin 蛋白在昆虫肌肉组织中发挥着重要的作用。

线虫和果蝇的 Kettin 蛋白都具有多个大小不一的同源体（图 3，Lakey *et al*.，1993），这些同源蛋白大都由不同的剪切方式所得，已有研究表明 Kettin 蛋白可能是 Titin 蛋白选择性剪切的产物（Kulker *et al*.，2001）。棉铃虫和家蚕的 Kettin 蛋白同源性高达 90%，但是棉铃虫的 HaKettin1 蛋白比家蚕的 Kettin 蛋白少了 4 个免疫球蛋白结构域（3′端 3 个和中间部位的 1 个）。因而，在棉铃虫体内也可能存在 HaKettin1 蛋白的同源蛋白，是由不同的剪切方式产生的。家蚕的 Kettin 基因已被定位于 Z 染色体上（Suzuki *et al*.，1999），Z 染色体上的基因可以作为分子标记来构建昆虫的 ZW 型易位系，并最终构建性连锁平衡致死品系进行昆虫的性别控制（何克容等，2002）。进一步研究阐明 *HaKettin1* 基因在棉铃虫染色体上的定位，以及应用该基因进行棉铃虫性别控制及其遗传防治都具有重要意义。

参 考 文 献（References）

Bullard B，Garcia T，Benes V，Leake MC，Linke WA，Oberhauser AF，2006. The molecular elasticity of the insect flight muscle proteins projectin and kettin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*，103：4 451 – 4 456.

Hakeda S，Endo S，Saigo K，2000. Requirements of Kettin，a giant muscle protein highly conserved in overall structure in evolution，for normal muscle function，viability，and flight activity of *Drosophila*. *J. Cell Biol*.，148：101 – 114.

He KR，Zhu XR，Huang JH，Xia JG，2002. Study on the transformation of sex-controlled lethal genes balanced on silkworm sex chromosome（*Bombyx mori*）. *Sci. Agri. Sin*.，35（2）：213 – 217.［何克容，祝新容，黄健辉，夏建国，2002. 家蚕性连锁平衡致死系性别控制基因转移方法研究. 中国农业科学，35（2）：213 – 217］

Kulker M，Neagoe C，Kolmerer B，Minajeva A，Hinssen H，Bullard B，Linke WA，2001. Kettin，a major source of myofibrillar stiffness in *Drosophila* indirect flight muscle. *J. Cell Biol*.，154：1 045 – 1 057.

Lakey A，Ferguson C，Labeit S，Reedy M，Larkins A，Butcher G，Leonard K，Bullard B，1990. Identification and localization of high molecular weight proteins in insect flight and leg muscle. *EMBO J*.，9：3 459 – 3 467.

Lakey A，Albeit S，Gautel M，Ferguson C，Barlow DP，Leonard K，Bullard

B，1993. Kettin，a large modular protein in the Z-disc of insect muscles. *EMBO J.*，12：2 863－2 871.

Maki S，Ohtani Y，Kimura S，Maruyama K，1995. Isolation and characterization of a kettin-like protein from crayfish claw muscle. *J. Muscle Res. Cell Motil.*，16：579－585.

Ono K，Yu R，Mohri K，Ono S，2006. *Caenorhabditis elegans* Kettin，a large immunoglobulin-like repeat protein，binds to filamentous actin and provides mechanical stability to the contractile apparatuses in body wall muscle. *Mol. Biol. Cell*，17：2 722－2 734.

Straiten M，Goulding D，Kolmerer B，Labeit S，Clayton J，Leonard K，Bullard B，1999. Association of kettin with actin in the Z-disc of insect flight muscle. *J. Mol. Biol.*，285：1 549－1 562.

Suzuki MG，Shimada T，Kobayashi M，1999. *Bmkettin*，homologue of the *Drosophila* kettin gene，is located on the Z chromosome in *Bombyx mori* and is not dosage compensated. *Heredity*，82：170－179.

（责任编辑：黄玲巧）